

論文の内容の要旨

氏名：西 出 拓 馬

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：マウス膠芽腫モデルおよび膠芽腫細胞株における AMPA 型グルタミン酸受容体拮抗薬の抗腫瘍効果の検討

膠芽腫に合併する症候性てんかんに対しては様々な抗てんかん薬が使用可能である。選択肢が多岐にわたるなかで、膠芽腫に対する抗腫瘍効果を併せ持つ抗てんかん薬があれば、治療上極めて有用である。perampanel (PER) は膠芽腫細胞に多く発現するグルタミン酸受容体の拮抗薬であり、近年、*in vitro* で膠芽腫細胞に対する抗腫瘍効果を示した報告がなされている。そこで我々は、膠芽腫の標準治療薬である temozolomide (TMZ) と PER による併用療法の膠芽腫に対する抗腫瘍効果を検討し、臨床応用を目指すべく本研究を計画した。市販のヒト膠芽腫培養細胞株である U-87MG、および、手術患者検体から新たに樹立した膠芽腫細胞株 0125-GSC を使用した。はじめに、PER 単剤投与による両細胞株に対する抗腫瘍効果を評価するために、細胞増殖抑制試験を行った。両細胞株とも、生細胞数は $1 \mu\text{M}$ から有意に減少した ($p < 0.01$)。次に、PER が膠芽腫細胞に対する細胞増殖抑制効果を示す機序を検討するために、両細胞株に PER を投与した後の、アポトーシス、細胞周期の停止、ならびにオートファジーに関連するタンパクの発現をウエスタンブロット法で評価した。一次抗体は p53、pp53、p21、Bax、Fas-R、caspase-8、caspase-3、ATG5、LC3 を使用した。結果として上記抗体の発現増強が認められた。続いて、両細胞株に TMZ と PER を併用して投与した際の細胞増殖抑制効果ならびに細胞増殖抑制効果を示す機序を検討した。生細胞数は両細胞株において、TMZ と PER を併用した際に最も減少し、control、PER 単剤投与、TMZ 単剤投与と比較して有意差が認められた (全て $p < 0.01$)。TMZ 単剤投与時と PER 単剤投与時では生細胞数に有意差が認められなかった (U-87MG: $p = 0.43$, 0125-GSC: $p = 0.06$)。また、TMZ と PER を併用することにより、単剤投与よりも強くアポトーシス、細胞周期の停止、オートファジーに関連する一次抗体の増強が認められた。最後に、PER の抗腫瘍効果、ならびに、TMZ との併用効果について、*in vivo* の実験を行って検討した。動物実験として、免疫不全マウスを 7 日間順化飼育した後に、脳内に U-87MG 細胞を定位的に移植しマウス膠芽腫モデルを作成した。マウスを無治療群、TMZ (25 mg/kg) 投与群、PER (10 mg/kg) 投与群、TMZ (25 mg/kg) + PER (10 mg/kg) 併用投与群に分け、生存期間を観察した。各群のマウスの生存期間の中央値は、無治療群が 30.0 日、TMZ 投与群が 34.0 日、PER 単剤投与群が 41.0 日、TMZ + PER 併用投与群が 52.0 日であり、TMZ + PER 併用投与により、無治療群 ($p < 0.01$)、PER 単剤治療群 ($p < 0.01$)、TMZ 単剤治療群 ($p < 0.05$) と比較し、有意に生存期間が延長することが明らかとなった。本研究により、PER が膠芽腫に合併するてんかんを予防する効果のみならず、膠芽腫に対する抗腫瘍効果をも併せ持つ薬剤であることが示唆された。